

⑪ 公開特許公報 (A) 昭62-61590

⑫ Int.Cl.⁴

C 12 P 7/64

識別記号

府内整理番号

7236-4B

⑬ 公開 昭和62年(1987)3月18日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 油脂の酵素処理方法

⑮ 特願 昭60-201327

⑯ 出願 昭60(1985)9月10日

⑰ 発明者 澤村 紀夫 橋本市中道226

⑰ 発明者 井上 敦子 岸和田市春木旭町30-15

⑰ 発明者 海老原 善隆 八尾市本町5-1-10

⑰ 出願人 不二製油株式会社 大阪市南区八幡町6番1

⑰ 代理人 弁理士 門脇 清

明細書

1. 発明の名称 油脂の酵素処理方法

2. 特許請求の範囲

(1) グリセリド油脂に少量の水の存在下で部分グリセリド特異性酵素を作用させた後、反応物から酵素及び水性画分を分離し、次に要すれば脂肪酸、脂肪酸エステル、又は他のグリセリド油脂を加えて、1-,3-位特異性酵素を作用させた後グリセリド油脂を分取することを特徴とする、油脂の酵素処理方法。

(2) 部分グリセリド特異性酵素を作用させるグリセリド油脂が、1-,3-位特異性酵素を作用させて得たエステル交換油脂の液体側画分を含有する特許請求の範囲第(1)項記載の処理方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

この発明は油脂を少なくとも2種の酵素で処理する方法に関するものである。

(従来の技術)

部分グリセリドに特異的に作用する酵素の存在、

及び、その精製方法が知られている（例えば、S. Okamura 等、J. Biochemistry, 87, 205 (1980)）が、該特異性酵素を利用する用途として従来著目されているのは、該特異性がない他の酵素（むしろトリグリセリドをよく加水分解する酵素）と併用してグリセリド油脂を速やかに完全に加水分解することにあり、他の有効な用途は未だ見い出されていない。

一方、リバーザを用いて油脂をエステル交換する方法が知られておりグリセリドの1-,3-位等を選択的にエステル交換するのに有用であるが、部分グリセリドを生成しやすい難点があり、特にジグリセリド成分が含まれていると、トリグリセリドと共に混合物をつくり、固体脂指数の低下、融点降低、分別精度の低下、結晶転移（ α 型→ β 型→ β' 型）の遷移等をもたらすので、ハードバターを得ようとする場合品質上問題である。

(発明が解決しようとする問題点)

上記いずれの脂質分解酵素も、トリグリセリドを最終製品として得ようとする場合、共にその收

率向上に留意すべきである。酵素によるエステル交換反応の場合は、系中の水分を可及的取り去ることにより、トリグリセリドの収量を多くしジグリセリドの生成乃至残存を抑制する方法が既に提案されているが、部分グリセリド特異性酵素を使用させる系では遊離脂肪酸の生成は不可避的であり、系中の水分の除去には限界がある。加えて、該生成した脂肪酸を除去する為に、最も通常の脱酸方法であるアルカリ脱酸を採用するとトリグリセリドの歩留りをさらに低下させるのが通常である。

しかしながら、本発明者は、先に、トリグリセリドの分解を抑制しつつ、部分グリセリド特異性酵素で処理すれば、生成する脂肪酸はこれを除去する必要なく、次のエステル交換反応に有効に利用できることを着想し、この発明を完成するに至った。

(問題点を解決するための手段及び作用)

この発明は、グリセリド油脂に少量の水の存在下で部分グリセリド特異性酵素を作用させた後、

反応物から酵素及び水性画分を除去し、次に要すれば脂肪酸、脂肪酸エステル、又は他のグリセリド油脂を加えて、1-,3-位特異性酵素を作用させた後グリセリド油脂を分取することを骨子とする油脂の酵素処理方法である。

即ち、1-,3-位特異性酵素を作用させる前に、部分グリセリド特異性酵素を作用させることにより、部分グリセリド特異性酵素の作用により生じた反応物から脂肪酸を除去（脱酸）することなく、脂肪酸をエステル交換反応におけるグリセリドへの脂肪酸導入源として用いることができ、且つ、エステル交換反応原料油脂のジグリセリド含量が低下しているので、結果として得られるエステル交換反応油のジグリセリド含量も低くすることができる。

部分グリセリド特異性酵素を作用させる原料グリセリド油脂は、通常グリセリド中2%以上のジグリセリドを含有する油脂を用いるが、ジグリセリド含量の少ない油脂は元々トリグリセリドに悪影響を与えることが少ないのでこの部分グリセリ

D特異性酵素を作用させる効果は少ない。原料油脂の起原は限定されないが、目的油脂がハードバターである場合、オリーブ油、オレイックサフラワー油、ツバキ油、バーム油、菜種油（Zero Brucic タイプ）、シア脂、サル脂、マンゴー脂、コーカム、ボルネオタロー、及びマラババ脂等、又はこれらを分画等の加工をした油脂が例示され、2-位に結合する脂肪酸がオレイン酸に富む油脂が概ね70%以上のものがよい。特に部分グリセリド特異性酵素を作用させるグリセリド油脂が、1-,3-位特異性酵素を作用させて得たエステル交換油脂の液体側画分を含有する場合、エステル交換反応の過程で生成するジグリセリド成分はこの画分に濃縮されるので特に有用である。

部分グリセリド特異性酵素の存在及び精製方法は、前記のように公知であるが、動植物性起原、微生物起原の別なく使用することができる。但し、本発明者の知見では、酵素の使用量はその力価が高すぎないようにした方が、選択性はより優れている。即ち、酵素の力価は、1分間に1μMのp-

ニトロフェノールを遊離せしめる酵素の量を1単位として、基質1gに対して5単位以下が好ましく、特に好ましくは、0.01~0.1単位/g 基質である。作用させる時間は10分~24時間で通常充分だが、酵素量が多くて、長時間作用させると、トリグリセリドの分解もおこりやすくなることがあるので通常4時間以内に留めるのがよい。作用温度は通常20~85℃の範囲にあり、使用する酵素に応じて適宜定めるとよい。

部分グリセリド特異性酵素を作用させる系中には少量の水の存在が必要であり、基質グリセリド油脂に対して、通常0.2%以上好ましくは1%以上、最適には5~15%程度の水分があるようにする。水分が少ないと部分グリセリド特異性酵素が殆ど作用せず、あまり多くすることによる効果は少ない。

該反応物からは酵素及び水性画分を除去し、これによって、反応物の一部を構成するグリセロールが除かれるが、遊離脂肪酸は殆ど除かれない。要すればさらに水洗、脱水することによりグリセ

ロールはより完全に除去される。系中にグリセロールが残存すると、水と同様に、次のエステル交換反応で部分グリセリドを増大させる要因になる。

次に要すれば脂肪酸、脂肪酸エステル、又は他のグリセリド油脂等の脂肪酸導入源を加えて、1-,3-位特異性酵素を作用させてエステル交換反応を行うが、加える脂肪酸が多量であると通常溶剤の使用が必要になるので、脂肪酸よりは脂肪酸のアルコールエステル又は及びグリセリド油脂である方が望ましい。尤も、この発明では、エステル交換反応における溶剤の使用を除外するものではない。導入する脂肪酸の種類は、目的物がハードバターである場合、通常パルミチン酸またはステアリン酸を主にするものがよい。導入脂肪酸が、脂肪酸のアルコールエステルである場合、アルコールは、炭素数1~4の低級1価アルコールが望ましい。

エステル交換反応系における水分は、当初から若しくは反応途中で乾燥して、系中水分（酵素、溶媒に由来する水を含む）が基質に対して0.18%

以下となるようにするのが部分グリセリドの生成を抑制するのに好ましく、部分グリセリド特異性酵素による処理と相俟って、より低いジグリセリド含量の反応油を得ることができる。上記のような低水分系または乾燥系において優れたエステル交換活性を示す酵素剤としては、酵素を一旦水系下で粗体に分散、吸着、乃至結合せしめ、これを緩慢に乾燥して得たもので、他に特に処理していないものでも菌体に結合した酵素のように弱い活性ながら使用することができるものもある。尤も、上記の系においてエステル交換活性があり、目的とする選択性を示すものは、酵素の種類及び調整法は何ら限定されない。

エステル交換の選択性は、グリセリドの1-,3-位をエステル交換するが2-位は殆どエステル交換しない性質を有するものであり、このような選択性を示す酵素は、動植物性起原、微生物起原の別なく使用することができる。エステル交換反応は概ね20~75℃の範囲で行われる。

エステル交換反応物からはグリセリド油脂を分

取する。グリセリド油脂から脂肪酸または脂肪酸と脂肪酸の低級アルコールエステルを分離するに、蒸溜、吸着、及びアルカリ脱酸の方法を用いることができる。

分取したグリセリド油脂は、そのまま、または分別により高融点部若しくは及び低融点部を除去して目的油脂を得る。低融点部を除去する場合は、前記のように、この部分にジグリセリドが比較的多いので再度部分グリセリド特異性酵素で処理し、エステル交換反応原料の一部または全部として循環使用することができる。

グリセリド油脂から分離した遊離脂肪酸またはその低級アルコールエステルを水素添加し、或いはエステル化処理等をして、これもエステル交換反応の原料の一部として循環使用することができる。

(効果)

この発明における主要な効果は上記のように、特異性酵素の処理により生じる遊離脂肪酸をエステル交換反応の原料として使用することができ、

従って通常であれば生じる脱酸損失を低下せしめることができることであり、第二に、目的油脂中のジグリセリド含量を低下させることができること、或いは、一定水準の品質のハードバターを得るために制約を受けるジグリセリド生成量が緩和できる等、反応促進に寄与することである。

【実施例】

以下この発明を実施例で説明する。

実施例1

部分グリセリド特異性酵素として、ベニシリウム属の菌から得られた天野製薬製の酵素（商品名「リバーゼ G」）（酵素1mg当たりの前記活力4.2U）を使用し、1-,3-位特異性酵素として、市販リゾーブス・デレマーのリバーゼ1部と珪藻土2部を混合し、冷水適当量を散布・攪拌しながら粒状となし、これを15℃の液圧下に緩慢に乾燥した水分1.5%の珪藻土酵素を使用して、以下の酵素処理を行った。

即ち、ジグリセリド含量5.7%、酸価（AV 0.25）のバーム中融点画分を基質とし、この基質に

対して0.01%の部分グリセリド特異性酵素と10%の水を加え常温で、1時間酵素反応を行わせた後、酵素及び水分を除去したところ、収量は99.5%で、ジグリセリド含量1.2%、酸価10.5であった。(尚、参考のため上記と同様に部分グリセリドを選択的に加水分解した油脂を、別途常法によりアルカリ脱酸したところ収量92%であった。)これにステアリン酸エチルを等量混合し、水分0.01%に乾燥したものを基質とし、1-,3-位特異性酵素を10%加えてエステル交換を行い、反応率90%になった時点で、グリセリド油脂を分取(ジグリセリド含量2.5%)し、常法により高融点部を除去してハードバターを得た(ジグリセリド含量1.3%、Jensen法によるクリーリングカーブのT_{max}は29.5℃)。これを用いてチョコレートを試作したが作業性、耐熱性共に優れたものであった。

比較として部分グリセリド特異性酵素を作用させないバーム中融点部分をステアリン酸エチルと混合する他は同様にエステル交換してハードバターを得る例も実施したが、得られたハードバター

のジグリセリド含量は4.2%、T_{max}は27.5℃であった。

実施例2

初発時には、精製ハイオレイックサフラワー油30部とステアリン酸エチル70部を減圧加熱乾燥し、前記1-,3-位特異性酵素を充填したカラムを通過(系中水分0.01%)させ、通過物を、220℃ 3mHgで単蒸溜し、次いで230℃ 3mHgで水蒸気蒸溜して各段階で溜去された部分の比が概ね95:5とし、後者の部分は少量(次の硬化後の量が70部になる量)のオレイン酸及び過剰のエタノールを加え硫酸触媒を用いてエステル化することにより酸価3に低下させてから前者の部分と併せ、水素添加により極度硬化し、これ(酸価は10)をエステル交換の反応原料として循環使用するとともに、蒸溜で残ったグリセリド油脂を溶剤で分別を行って固体側をハードバターとして得、液体側部分にはハイオレイックサフラワー油を加えて30部とし、これもエステル交換反応のグリセリド油脂原料として循環使用する反応系において、部分グリセリ

ドを選択的に加水分解する処理を行った。即ち、エステル交換反応物から回収したグリセリド油脂の液体側部分に、部分グリセリド特異性酵素を作らせ、酵素及び水性部分を分離したものにハイオレイックサフラワー油を加えた。

上記循環において、部分グリセリド特異性酵素の基質の酸価は0.31、ジグリセリド含量は6.2%であり、該酵素を作らせた後の酸価は9.3、ジグリセリドは1.8%であった。

実施例3

カラム通過時の系中水分を0.04%とし、エステル交換反応物の、単蒸溜及び水蒸気蒸溜の各段階で溜去された部分の比が概ね90:10にする他は実施例2と同様の連続反応を行った。エステル交換の反応性は、実施例2に対して120%になったが、実施例2で部分グリセリド特異性酵素を作らせない場合に比べて、製品品質上の遅色は無かった。

実施例4

シア脂低融点部分(ジグリセリド含量6.5%)およびパルミチン酸メチルを、バーム中融点部分

及びステアリン酸エチルの代わりに使用する他は実施例1を反復した。得られたハードバター中のジグリセリド含量は1.6%であった。

特許出願人 不二製油株式会社
代理人弁理士 門脇 清